

PERBEDAAN DAYA HAMBAT OBAT KUMUR EKSTRAK TEH HIJAU (*Camellia sinensis*) DAN METIL SALISILAT TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI RONGGA MULUT

DIFFERENCE OF INHIBITORY PROPERTIES BETWEEN MOUTHWASH WITH GREEN TEA (Camellia sinensis) EXTRACT AND METHYL SALICYLATE TOWARDS THE GROWTH OF ORAL CAVITY BACTERIA

Christian Victor B.,
Retno Indrawati.,
Sidarningsih,

Bagian Biologi Oral
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Unair
Surabaya – Indonesia

ABSTRACT

Background : Mouthwashes are act as antiseptic, astringent and freshener agent. One leaf of green tea composed of natural ingredients such as Vit C and E as antioxidants along with catechin, and also plenty other substances; Catechin, is a polyphenolic compound acts as antioxidant and antibacterial agent by disrupting bacterial cell membrane, killing bacteria from within. **Purposes:** To compare the inhibitory properties between mouthwashes with green tea extract and methyl salicylate towards the oral bacteria. **Methods:** Human subjects were gargling with the sterile aquades, the results collected, taken by 0.1 ml using micropipet, inoculated into BHIB liquid media for 24 hours, standaridized by McFarland 0.5 which equals 1.5×10^8 CFU, and moved into MH agar media which divided into 6 areas with one on the center as control area. Six paper discs were soaked in the mouthwashes with 0.5%, 1%, 2% and 4% tea extracts, methyl salicylate, and, PVP-I as control, and latched onto respective areas. The indicator is the Inhibitory Zones formed around each paperdiscs, the areas on which the bacteria couldn't colonize. **Results:** No Inhibitory Zones were formed on the area with paperdiscs soaked in mouthwashes with tea extracts, nor the one with methyl salicylates, meanwhile, the positive control with PVP-I did grow some Inhibitory Zones on some samples with diameters of 2-3mm width. **Conclusions:** The tea extract is not proven to be more effective than the methyl salicylate mouthwash to inhibit bacterial growth.

Keywords : Green tea extract, methyl salicylate, Povidone iodine, oral bacterial growth

Korespondensi (*correspondence*): Dr. Retno Indrawati., drg.,M.Si, Sidarningsih, drg., M.Kes, Bagian Biologi Oral , Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. Jl. Mayjen. Prof. Dr. Moestopo No. 47 Surabaya . E-mail: Christian020810011@yahoo.com, retno_in2007@yahoo.co.id , sidar_ningsih@yahoo.com

PENDAHULUAN

Obat kumur didefinisikan sebagai larutan berbahan dasar air yang digunakan sebagai bahan deodorant, penyegar atau antiseptik. Obat kumur memiliki beragam fungsi terkait kesehatan gigi dan mulut, di antaranya sebagai bahan antibakteri, antiplak, irigasi rongga mulut, mengurangi halitosis, serta memberi rasa menyegarkan pada mulut setelah berkumur^[1].

Secara umum obat kumur mengandung alkohol sebagai perasa dan bahan vehikulum untuk bahan aktifnya^[2]. Obat kumur yang beredar di pasaran mengandung bahan antiseptik misalnya metil salisilat yang dibuat secara khusus melalui proses laboratorium dengan rumus kimia $C_8H_8O_3$ ^[3]. Metil salisilat diketahui

menyebabkan sejumlah gejala toksisitas serta berkaitan dengan *Reye's syndrome* pada anak-anak dan menyebabkan retensi garam dan air serta menyebabkan penurunan fungsi ginjal pada pasien dengan gagal jantung kongestif.^[4]

Obat kumur Povidone iodine (PVP-I) merupakan senyawa antibakterial yang cukup poten. Penggabungan PVP (polivinil pirolidone) sebagai pembawa iodine (I_2) bebas langsung ke permukaan sel bakteri. Iodine bebas (I_2) menyerang sitoplasma bakteri dan membrannya serta membunuh bakteri dalam hitungan detik^[5].

Berbagai efek samping yang ditimbulkan dari pemakaian bahan kimia dalam obat kumur cukup banyak dan signifikan sehingga diperlukan alternatif lain sebagai bahan baku pembuatan obat kumur dengan efek samping seminimal

mungkin, ekonomis dan berkhasiat. Alternatif yang memenuhi syarat tersebut adalah bahan dari herbal dan salah satunya adalah teh hijau. Teh hijau (*Camellia Sinensis*) merupakan tanaman berkhasiat yang telah dikenal berabad-abad lampau. Dari kurang lebih 3000 jenis teh hasil hibrida, didapatkan 3 jenis teh hasil proses yaitu teh hijau, teh oolong, dan teh hitam. Teh hijau memiliki beragam khasiat, di antaranya menunjang dan memperkuat sistem imun tubuh, serta membersihkan tubuh dari berbagai toksin dan radikal bebas. Khasiat tersebut disebabkan oleh kandungan antioksidannya yang termasuk ke dalam golongan zat polifenol^[6].

Jenis polifenol yang umum terdapat dalam teh hijau adalah catechin terutama yang banyak adalah diepigallocatehin 3-gallate (EGCG). Selain itu teh hijau juga mengandung karotin, tokoferol, dan beberapa jenis mineral seperti Cromium (Cr), dan Mangan (Mn), juga juga beberapa senyawa fitokimiawi. Kemampuan antioksidan teh hijau lebih kuat dibandingkan teh hitam meskipun tidak mengandung theaflavin seperti teh hitam. Di samping itu penyajian teh hijau cukup dengan diseduh dan tak memerlukan bahan pengawet^[7].

Teh hijau memberikan efek anti karies dan mampu mencegah pembentukan plak pada rongga mulut. Efek anti karies pada teh hijau ini disebabkan oleh kandungan fluoride yang dapat memperkuat email gigi serta ditunjang oleh catechin yang bersifat bakterisidal terhadap bakteri kariogenik. Teh hijau secara alami juga memiliki kandungan kafein, sehingga beberapa jenis teh secara khusus mendapat perlakuan dekafeinasi untuk mengurangi kadarnya. Efek kafein dalam teh hijau sendiri secara alami juga ditekan dengan adanya dua komponen penting yakni catechin dan L-theanin.^[8] Sifat kimiawi teh hijau sebagai antikariogenik telah mendapatkan perhatian khusus oleh para peneliti, sebagai dasar pemanfaatan teh hijau dalam berbagai produk kesehatan rongga mulut seperti obat kumur. Teh hijau juga merupakan bahan herbal yang relatif lebih aman dibandingkan dengan bahan obat kumur dari berbagai zat kimia yang tentunya menimbulkan efek samping yang serius. Dengan demikian, penambahan ekstrak teh hijau ke dalam bahan-bahan obat kumur, diharapkan mampu meningkatkan performa kerja obat kumur dalam menjaga kesehatan rongga mulut. Pemanfaatan obat kumur herbal dengan bahan teh hijau relatif bebas efek samping dan diharapkan kesehatan rongga mulut bisa dijaga secara optimal.

Tujuan penelitian ini adalah membandingkan daya hambat obat kumur dengan ekstrak teh hijau konsentrasi 0.5%, 1%, 2% dan 4% serta obat kumur metil salisilat di pasaran terhadap pertumbuhan bakteri rongga mulut.

METODE DAN CARA KERJA

Jenis penelitian adalah penelitian eksperimental laboratoris. Rancangan penelitian yakni *post test only control group design*. Sampel yang akan digunakan pada penelitian adalah biakan bakteri rongga mulut.

Teknik *sampling* yang digunakan adalah *purposive sampling*.

Bahan yang digunakan dalam percobaan ini antara lain, obat kumur dengan metil salisilat, obat kumur dengan povidone iodine, daun teh hijau kering dalam kemasan, etanol 96%, aquades, media BHIB untuk isolasi kumur dan media agar Mueller-Hinton untuk penanaman bakteri pada proses uji Kirby-Bauer.

Pasien haruslah bersedia untuk berpartisipasi dalam penelitian (*informed consent*), tidak makan/minum 1 jam sebelum penelitian, dalam keadaan *fit* dan sehat, serta memiliki kondisi mulut dengan index karies DMF-t minimal 5.

Pasien tidak boleh diuji apabila mengkonsumsi obat-obatan oral maupun antibiotik sistemik selama 3 minggu terakhir, memiliki penyakit yang mempengaruhi sekresi kelenjar saliva (antara lain *diabetes mellitus*, penyakit jantung), menggunakan kawat gigi, menggunakan gigi palsu, mendapat terapi radiasi daerah kepala dan leher, maupun perokok aktif

Ekstrak teh hijau dibuat dari daun teh hijau kering kemasan. Ekstrak teh hijau yang sudah jadi dicampurkan ke formulasi obat kumur dengan konsentrasi 0.5%, 1%, 2% dan 4% Obat kumur yang sudah jadi dikemas dan dilabeli masing-masing. Selanjutnya kultur bakteri rongga mulut dipersiapkan. Ketujuh pasien diminta berkumur dengan air mineral biasa. Air kumur ditampung dalam gelas khusus dan diambil dengan mikropipet sebanyak 0.1 ml lalu diinokulasi ke dalam media cair BHIB. Setelah itu diinkubasi selama 24 jam pada 37°C. Kultur bakteri rongga mulut dalam media BHIB kemudian diencerkan sampai sama dengan Standar kekeruhan McFarland 0.5

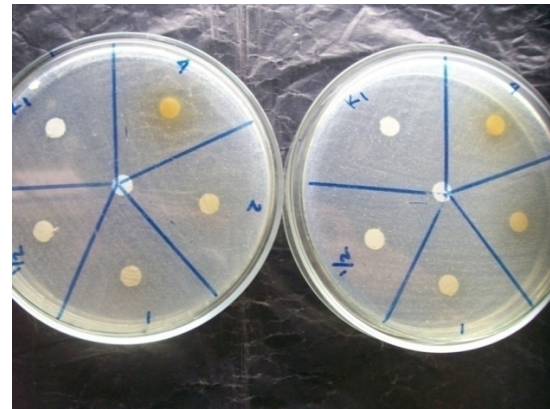
disebandingkan dengan densitas suspensi bakteri 1.5×10^8 koloni yang terbentuk (CFU)/ml^[12]. Uji daya hambat dilakukan dengan metode Kirby-Bauer pun dilakukan. Mula-mula, bakteri diambil sebanyak 0.1 ml dari media isolasi BHIB dan dituangkan pada media pembenihan *Mueller-Hinton agar* dengan cara *spreading*. Paperdisc dicelupkan dalam obat kumur dengan ekstrak teh hijau konsentrasi 0.5%, 1%, 2% dan 4%. Masing-masing disk tersebut diletakkan pada media Mueller Hinton agar yang berisi bakteri rongga mulut. Masing-masing media lalu dibagi 6 untuk obat kumur ekstrak teh hijau serta obat kumur dengan metil salisilat serta obat kumur povidone iodine yang digunakan sebagai kontrol. Pembenihan tersebut diinkubasikan dengan suhu optimum 37°C selama 24 jam dalam inkubator, kemudian dilihat dan diukur diameter zona hambatan dari masing-masing konsentrasi obat kumur pada disk, yakni daerah jernih di sekitar *paperdisc*

HASIL

Penelitian yang dilakukan untuk menguji daya hambat obat kumur ekstrak teh hijau dan metil salisilat dengan povidone iodine sebagai kontrol pada 7 sampel dapat dilihat dalam tabel sebagai berikut

Tabel 1. Diameter zona hambat tumbuh bakteri rongga mulut oleh obat kumur pada uji kepekaan dengan difusi agar

N =	Obat kumur ekstrak teh				Metil Sali- silat	Povi- done Iodine
	0.5%	1%	2%	4%		
7	0	0	0	0	0	-
	0	0	0	0	0	-
	0	0	0	0	0	-
	0	0	0	0	0	-
	0	0	0	0	0	-
	0	0	0	0	0	-
	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	2
	0	0	0	0	0	2
	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	2
	0	0	0	0	0	0



Gambar 1 Uji daya hambat dengan metode Kirby-Bauer dengan ekstrak teh.hijau 0.5%, 1%, 2% 4%, metil salisilat dan povidone iodine

Keterangan :

Area ½ : obat kumur ekstrak teh hijau 0.5%

Area 1 : obat kumur ekstrak teh hijau 1%

Area 2 : obat kumur ekstrak teh hijau 2%

Area 4 : obat kumur ekstrak teh hijau 4%.

Area K1 : obat kumur povidone iodine

Area di pertengahan media : obat kumur metil salisilat.

Pada tabel dan gambar di atas menunjukkan bahwa zona hambat tidak terbentuk pada obat kumur ekstrak teh dengan konsentrasi 0.5%, 1%, 2% dan 4%, demikian juga obat kumur berbahan metil salisilat. Pada obat kumur berbahan aktif iodine sebagai kontrol muncul zona hambat, yaitu sebesar 2-3mm. Hal ini menunjukkan bahwa baik obat kumur ekstrak teh hijau konsentrasi 0.5%, 1%, 2%, 4% serta metil salisilat tidak menghambat pertumbuhan bakteri rongga mulut.

Sesudah uji daya hambat, dilakukan pula pengecatan Gram untuk mengidentifikasi morfologi bakteri yang tumbuh di dalam media Mueller Hinton agar. Hasil pengecatan tersebut dapat dilihat dalam tabel berikut.

Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Mikroskopis dengan Pengecatan Gram Bakteri Rongga Mulut Sampel pada Media *Mueller Hinton* dengan penambahan ekstrak teh hijau

NO.	Bakteri yang teridentifikasi
1	<i>Streptococcus</i> (Gram +) dan batang (Gram +)
2	<i>Staphylococcus</i> (Gram +), rod, filamen (Gram +)
3	<i>streptococcus</i> (Gram +) dan batang (Gram +)
4	<i>streptococcus</i> (Gram +) dan batang (Gram +)
5	<i>Staphylococcus</i> , (Gram +) dan diplokokus (Gram +)
6	<i>Staphylococcus</i> (Gram +) dan diplokokus (Gram +)
7	<i>Diplococcus</i> (Gram +) dan batang (Gram +)

PEMBAHASAN

Penelitian ini melihat efek antibakteri rongga mulut oleh obat kumur dengan ekstrak teh hijau konsentrasi 0.5%, 1%, 2% dan 4% serta metil salisilat. Ekstrak teh hijau yang menjadi bahan obat kumur dipakai dengan konsentrasi mulai dari 0.5% karena menurut penelitian sebelumnya, bakteri penyebab karies, yakni *S.mutans* bisa dihambat dengan ekstrak teh hijau berkonsentrasi 0.5%^[13]. Peningkatan konsentrasi menjadi 1%, 2% dan 4% bertujuan mengetahui dosis optimal ekstrak teh yang masih bisa menghambat pertumbuhan bakteri rongga mulut berdasarkan kelipatan dosis patokan awal 0.5%.

Hasil yang didapat bahwa obat kumur ekstrak teh hijau pada konsentrasi 0.5%, 1%, 2%, 4% dan obat kumur metil salisilat konsentrasi 0.05% tidak dapat menghambat bakteri rongga mulut, sehingga hipotesis pada penelitian ini ditolak. Penelitian ini tidak sesuai dengan penelitian Widya (2010)^[13] yang melaporkan bahwa ekstrak teh hijau konsentrasi 0.5% efektif menghambat bakteri rongga mulut.

Ada beberapa kemungkinan yang menyebabkan tidak terhambatnya bakteri rongga mulut. Kemungkinan pertama adalah kurangnya konsentrasi ekstrak teh hijau yang dipakai dalam menghambat bakteri rongga mulut. Penelitian yang dilakukan Waluyo (2005)^[14] menyatakan

bahwa konsentrasi *catechin* yang dibutuhkan untuk menghambat bakteri rongga mulut berkisar antara 0.5 mg/ml.

Kedua yakni tidak terbacanya bakteri yang berhasil dihambat oleh ekstrak teh hijau. Pada penelitian ini, bakteri yang diuji adalah bakteri di dalam rongga mulut yang mengandung banyak macam bakteri. Kemungkinan obat kumur yang mengandung teh hijau maupun metil salisilat dalam penelitian ini menghambat beberapa macam bakteri, sedangkan macam bakteri yang lain tidak dapat dihambat. Hal ini mungkin menyebabkan tidak adanya zona inhibisi walaupun sebenarnya beberapa macam bakteri tidak tumbuh. Penelitian ini tidak membandingkan macam bakteri sebelum diberi obat kumur dengan setelah pemberian, namun pada beberapa sampel setelah pemberian obat kumur yang dilakukan pemeriksaan mikroskopis terlihat hanya 1 sampai 3 macam bakteri saja, padahal sebenarnya terdapat banyak macam bakteri.

Pada tabel 2 yang tercantum di hasil penelitian tampak bakteri yang tumbuh pada setiap pasien hanya didominasi bakteri berbentuk *streptococcus*, *staphylococcus*, diplokokus dan sebagian bakteri batang sedangkan di rongga mulut masih banyak bentukan bakteri lainnya yang mungkin terhambat pertumbuhannya oleh ekstrak teh hijau maupun metil salisilat, atau tak dapat tumbuh pada MH agar.

Setiap bakteri dapat terhambat pertumbuhannya oleh bahan anti bakteri dengan konsentrasi tertentu yang berbeda. Pada penelitian ini kemungkinan beberapa bakteri rongga mulut masih dapat tumbuh pada konsentrasi ekstrak teh hijau 0.5%, 1%, 2% dan 4%, maupun metil salisilat, sedangkan bakteri lain tidak tumbuh. Agnizarrido (2010)^[15] melaporkan bahwa pasta gigi dengan kandungan 0.5 mg/ml dapat menghambat bakteri *S.mutans*. Pada penelitian ini *S.mutans* mungkin mati, namun tak terbaca karena tumbuhnya bakteri lain.

Obat kumur dengan iodine sebagai kontrol terbukti lebih efektif pada beberapa sampel dengan zona hambat selebar 2-3mm. Iodine bekerja secara cepat bahkan pada konsentrasi yang rendah dengan cara melakukan infiltrasi pada mikroorganisme dan menyerang gugusan kunci protein secara langsung terutama sistein dan methionin yang termasuk asam amino bebas sulfur, juga menyerang nukleotida dan asam

lemak ^[5]. Pada akhirnya peristiwa ini menyebabkan kematian sel bakteri ^[16].

Kesimpulan dari penelitian ini, bahwa obat kumur yang mengandung ekstrak teh hijau 0.5%, 1%, 2% dan 4% maupun metil salisilat tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri rongga mulut.

Knowledge : Kami ucapkan terimakasih kepada kedua pembimbing saya Dr. Retno Indrawati, drg., MSi dan Sidarningsih, drg., MS. Penelitian ini merupakan penelitian tahap keempat dari pohon penelitian Dr. Retno Indrawati drg., MSi, dan mendapat sebagian dari dana bantuan penelitian Stranas DIKTI.

DAFTAR PUSTAKA

- Toedt J et al 2005. *Chemical composition of everyday products*. Greenwood Publishing Group. Pp. 48-49.
- Weinberg MA 2008. *Oral Pharmacology for the Dental Hygienist*, Pearson, pp. 127-30
- [Stewart David](#) 2005. *The Chemistry Of Essential Oils Made Simple: God's Love Manifest In Molecules*, Care Publications, p.44
- Council of Europe, 2008. Active ingredients used in cosmetics : safety survey p.281
- Mazolla PG; Jozala AF; Novaes LCL; Moriel P; Penna TC; 2009. *Minimal inhibitory concentration (MIC) determination of disinfectant and/or sterilizing agents*. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. p.3
- [‘Green Tea Catechins and Their Oxidative Protection in the Rat Eye’](#) 2010. in Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol. 58, No. 3, pp. 1523–1534
- Cabrera C; Artacho R; & Giménez R; 2006. [Beneficial effects of green tea--a review](#). J Am Coll Nutr 25 (2):pp. 79–99.
- Gardner EJ; Ruxton CH; Leeds AR; 2006. *Black tea - helpful or harmful? A review of the evidence*. Eur J Clin Nutr. p.2-3
- Fallon E; Zhong LT; Furne JK; Levitt MD; 2008. *A Mixture of Extracts of Black and Green Teas and Mulberry Leaf Did Not Reduce Weight Gain in Rats Fed a High-fat Diet*. Alternative Medicine Review Volume 13, Number 1, p.1
- Rajan SS 2001. *Anmol Publ, Research Trends In Modern Botany*. PVT.LTD. p.125
- Buslig BS; Manthey JA; 2002. *Flavonoids in cel function*. Springer. p.53
- Toedt J et al 2005. *Chemical composition of everyday products*. Greenwood Publishing Group. Pp. 48-49.
- Widya L 2010. *Daya Hambat Ekstrak Teh Hijau (Camellia sinensis Terhadap Pertumbuhan Kuman-Kuman Rongga Mulut)*. Skripsi. FKG Universitas Airlangga : Surabaya p.19
- Waluyo S 2001. *Daya Hambat Epigallocatechin Gallate dari Daun Teh Hijau terhadap S.Mutans*, Majalah Kedokteran Gigi (Dental Journal Fakultas Kedokteran Gighi Universitas Airlangga, Surabaya. p.112-5
- Agnizarridlo T 2010. *Perbedaan Daya Hambat Pasta Gigi dengan Kandungan Ekstrak Teh Hijau 0.25%, 0.5%, 0.75%, dan 1% Terhadap Streptococcus mutans*. Skripsi. FKG Universitas Airlangga : Surabaya, p. 20
- Selvaggi G; Monstrey S; Van Landuyt K; Hamdi M; Blondeel Ph; 2003. *The Role of Iodine in Antisepsis and Wound Management : A Reappraisal*. Plastic Surgery Department, Gent University Hospital, Gent, Belgium. *Acta chir belg*, **103**, pp 241-247
- Amin MS; Harrison RL; Benton TS; Roberts M; Wienstein P 2004. *Effect of Povidone-iodine on Streptococcus Mutans in Children with Extensive Dental Caries*. Pediatric Dentistry. p. 5
- Ather A 2007. *Bioactive Heterocycles*, vol. 4, Springer, p. 250.
- Azam S; Hadi N; Khan NU; Hadi SM 2004. *Prooxidant property of green tea polyphenols epicatechin and epigallocatechin-3-gallate: implications for anticancer properties*. Toxicol In Vitro, Pp. 555-61.
- Budtz-Jørgensen E; Løe H 1972. *Chlorhexidine as a denture disinfectant in the treatment of denture stomatitis*. Scand J Dent Res. 80:457-464. p.2
- ‘Camellia sinensis’. [Retrieved February 18th 2008](#). From http://www.hort.purdue.edu/newcrop/duke_energy/Camellia_sinensis.html
- Chastre, et al 2003. *Comparison of 8 vs 15 days of antibiotic therapy for ventilator-associated pneumonia in Adults*. JAMA, pp. 2588-2598.

23. Elton CT; Park R; Reynolds 1983. *Citrus Flavored Mouthwash Formulation Method*. p.1-3
24. Hara Y 2001. *Green tea, Health benefits and applications*. New York, USA: Marcel Dekker. p.3
25. Hasturk H; Nunn M; Warbington M; Van Dyke TE 2004. *Efficacy of a fluoridated hydrogen peroxide-based mouthrinse for the treatment of gingivitis: a randomized clinical trial*. J Periodontol. Pp.57-65.
26. Iswaldi I; Arráez-Román D; Rodríguez-Medina I; Beltrán-Debón R; Joven J; Segura-Carretero A; Fernández-Gutiérrez A 2011. *Identification of phenolic compounds in aqueous and ethanolic rooibos extracts (Aspalathus linearis) by HPLC-ESI-MS (TOF/IT)*. Anal Bioanal Chem (2011) 400:3643–3654, p.1
27. Kuriyama S; Hozawa A; Ohmori K; Shimazu T; Matsui T; Ebihara S; Awata S; Nagatomi R; Arai H; & Tsuji I 2006. *Green tea consumption and cognitive function: a cross-sectional study from the Tsurugaya Project 1*. Am J Clin Nutr, pp.355-61.
28. Kurniawan HJ 2010. *Uji Toksisitas Ekstrak Teh Hijau (Camellia sinensis) Terhadap Sel Fibroblas dengan Menggunakan Esei MTT*. Skripsi. FKG Universitas Airlangga : Surabaya. pp. 23-5
29. Lamont RJ; Burne RA; Lantz MS; Blant DJ 2006. *Oral Microbiology and Immunology*, ASM Press, pp.53-54
30. Lee KJ; Lee SH 2008. *Extraction Behavior of Caffeine and EGCG from Green and Black Tea*. In Biotechnology and Bioprocess Engineering, pp. 646-649.
31. Liang H; Liang Y; Dong J; Lu J; Xu H; Wang H 2007. *Decaffeination of green tea leaf (Camellia sinensis) by hot water treatment*. In Food Chemistry, pp. 1451-1456.
32. Lockwood B 2007. *Nutraceuticals: a guide for healthcare professionals*, Pharmaceutical Press, p.297.p.2
33. McGee H 2004. *On food and cooking: the science and lore of the kitchen*. New York: Scribner. p. 714.
34. Parthasarathy VA; Chempakam B; Zachariah TJ 2008. *Chemistry of Spices*, CABI. P.183
35. Reto M, et al 2007. *Chemical Composition of Green Tea (Camellia sinensis) Infusions Commercialized in Portugal*. In Plant Foods Hum Nutr 62:139–144
36. Sano J; Inami S; Seimiya K; Ohba T; Sakai S; Takano T; Mizuno K 2004. *Effects of green tea intake on the development of coronary artery disease*. Circ J. Pp. 665-70.
37. Song JM; Lee KH; Seong BL 2005. *Antiviral effect of catechins in green tea on influenza virus*. Antiviral Research. E-publication August 29th. p.3
38. Stoeken JE; Paraskevas S; & van der Weijden GA 2007. *The long-term effect of a mouthrinse containing essential oils on dental plaque and gingivitis: a systematic review*. J Periodontol. Pp. 1218-28.
39. Yoda Y; Hu ZQ; Zhao WH; Shimamura T 2004. *Different susceptibilities of Staphylococcus and Gram-negative rods to epigallocatechin gallate*. J Infect Chemother (2004) 10: pp. 55–58 ©
40. Zheng G; Sayama K; Okubo T; Juneja LR; Oguni I 2004. *Anti-obesity effects of three major components of green tea, catechins, caffeine and theanine, in mic*

